

Andrea Stadler

Dr. sc. hum.

Untersuchungen zu Phosphatidylethanol im Vergleich zu anderen Alkoholkonsummarkern an verschiedenen Probenmaterialien bei Alkoholentzugspatienten

Promotionsfach: Rechtsmedizin

Doktormutter: Prof. Dr. rer. nat. G. Skopp

Alkohol und Alkoholkonsummarker werden im Rahmen der forensisch-toxikologischen Analytik sowie der Fahreignungsbegutachtung häufig nach auffälligem Verhalten von Straßenverkehrsteilnehmern in verschiedenen Matrices untersucht. Hierzu gehören neben der Bestimmung der BAK auch die Kontrolle der Abstinenz bei einer medizinisch-psychologischen Untersuchung oder entsprechende Überprüfungen im Rahmen von Alkoholentzugsprogrammen. Diese unterschiedlichen Fragestellungen der Begutachtung erfordern verschiedene Marker, welche eine individuelle Aussage zu der jeweiligen Fragestellung ermöglichen. Für geeignete Marker müssen ausreichend Daten über ihre Präanalytik und Analytik sowie Aussagekraft vorliegen.

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Bestimmung bereits bekannter Alkoholkonsummarker – den indirekten Markern Carbohydrate-Deficient-Transferrin (Serum), mittleres Erythrozytenvolumen (Vollblut), den Aktivitäten von γ -Glutamyl-, Aspartat- und Alaninaminotransferasen und den direkten Markern Blutalkoholkonzentration (Serum), EtS (Urin), und EtG (Urin, Serum, Haar). Phosphatidylethanol wurde als neuer potentieller Marker mit einbezogen.

Für die Analytik von PEth wurden PEth 18:1/18:1 und PEth 16:0/18:1 ausgewählt und im Rahmen dieser Arbeit aus Blut und der zu Blut optionalen Trockenblutprobe (DBS) untersucht. Die Vorteile der DBS gegenüber Vollblutproben liegen in der einfachen Probengewinnung, Lagerung und Transport bei geringerem Infektionsrisiko.

Zur Untersuchung der verschiedenen Marker wurden Blut-, Urin- und Haarproben von Alkoholentzugspatienten aus zwei Einrichtungen (Krankenhaus Salem, Heidelberg und Psychiatrisches Zentrum Nordbaden, Wiesloch) gewonnen.

Die Analyse der BAK, des CDT sowie von EtG und ETS (Urin und Serum) erfolgte mittels Routinemethoden, die Bestimmung von EtG in Haaren wurde weiterentwickelt. Die Analysen der Leberenzyme ASAT und ALAT sowie des GGT und der MCV wurden im Rahmen der Routineuntersuchung durchgeführt.

Für die Gehaltsbestimmungen von PEth 18:1/18:1 und PEth 16:0/18:1 wurde ein Downscale auf 100 μ L Probenvolumen durchgeführt und eine Analyse mittels

LC-MS/MS entwickelt. Die Methode wurde nach gültigen Richtlinien der Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie (GTFCh) validiert. Für die Bewertung der Methodenäquivalenz von Blut und DBS wurden bekannte statistische Verfahren wie die lineare und Passing-Bablok-Regression sowie Bland-Altman-Differenzen- und Mountain-Plots eingesetzt. Zur Beurteilung der Stabilität von PEth wurden dotierte und authentische Proben aus Vollblut und DBS unter festgelegten Bedingungen untersucht.

Ein Vergleich der Gehaltsbestimmungsmethoden aus Vollblut und DBS ergab, dass die Bestimmung von PEth 18:1/18:1 und PEth 16:0/18:1 aus beiden Matrices äquivalent war. DBS waren Vollblutproben hinsichtlich des Matrixeffekts überlegen.

PEth war in Vollblutproben bei -20 °C nicht ausreichend stabil. Lediglich bei -80 °C konnte für PEth im Blut eine ausreichende Stabilität erreicht werden. In DBS war jedoch eine Lagerung bei Raumtemperatur über einen Zeitraum von 30 Tagen ohne deutliche Konzentrationsverluste möglich.

Die einzelnen Marker wurden hinsichtlich ihrer Nachweisdauer miteinander verglichen. Die Ergebnisse von CDT, EtG und EtS aus Urin und PEth 18:1/18:1 und 16:0/18:1 wurden in Bezug zu den aufgenommenen Trinkmengen anhand von Box-Whisker-Plots beurteilt.

CDT erwies sich als valider Marker bei Abstinenzfragen, während sich die Marker GGT, MCV sowie ASAT und ALAT als alleinige Marker als ungeeignet erwiesen. GGT eignet sich als leicht zugänglicher Parameter als Zusatzinformation in Zusammenhang mit weiteren Alkoholkonsummarkern.

Für EtG und EtS konnte gezeigt werden, dass die Analyse aus Urin der Analyse aus Serum hinsichtlich der Nachweisdauer deutlich überlegen ist. Ein sehr viel länger zurückreichender Zeitraum ergibt sich durch die Analyse von EtG aus Haar. Hier kann ein Zeitraum je nach Haarlänge von drei und mehr Monaten untersucht und beurteilt werden. In beiden Fällen lässt sich bereits der Konsum kleiner Alkoholmengen nachweisen.

Die gewonnenen Daten zu Phosphatidylethanol zeigen, dass sich der neue Alkoholkonsummarker mit einer Nachweisdauer von mehr als 12 Tagen als Langzeitmarker für einen zurückliegenden Alkoholkonsum und zur Abstinenzüberwachung eignet. Die Stabilität des Markers ist in Trockenblutproben gegenüber konventionellen Blutproben deutlich erhöht. Zukünftig müssen Parameter mit Einfluss auf das Subspeziesmuster von Phosphatidylethanol und vorherrschende Komponenten für eine routinefähige Analyse ausgewählt werden